



414509

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR D(+) - GLUCOSAMIDA DE ACIDO L-(P-CLOROBENZOIL)-2-METIL-5-METOXI-INDOLIL-3-ACETICO", a favor de la firma SIR - LABORATORI CHIMICO BIOLOGICI S.p.A., residente en Tor Sapienza, ROME (Italia).

C O F D // A 6 1 K

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA F. C. 12-2-76

Esta invención se refiere a la D(+)-glucosamida del ácido l-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, que tiene propiedades farmacológicas y terapéuticas interesantes. Los procedimientos para preparar el compuesto antes mencionado son objeto de la invención.

5.

Las patentes estadounidenses número 3.285,908 y número 3.336.194, que se refieren a amidas de ácidos indolilalifáticos y al uso de las citadas amidas como antiflogísticos respectivamente, mencionan asimismo, entre varios numerosos compuestos dentro de las correspondientes fórmu-

10.

414509-8



las generales, la D(+)-glucosamida del ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético. De tal compuesto no se refiere en ninguna de las dos patentes estadounidenses arriba mencionadas la propiedad químico-física que permitiría identificarlo, ni en la patente belga número 647,413 correspondiente.

Sin embargo, en la patente estadounidense número 3.285,908, columna 1, línea 58-59, y en la patente estadounidense número 3.336.194, líneas 61-62, se indica que las amidas secundarias y terciarias (y, por consiguiente, así mismo la D(+)-glucosamida) de los ácidos indolilalifáticos son acuosolubles. La misma manifestación se repite en ambas patentes, unas pocas líneas más abajo de las líneas arriba mencionadas, y esto además se refiere asimismo en la patente belga número 647.413, página 3, líneas 7 y 8 a contar desde abajo. La acuosolubilidad de las amidas referidas se subraya ulteriormente con respecto a su administración: así en la patente estadounidense número 3.336,194, columna 5, líneas 42-47, se indica el perfeccionamiento (sobre los ácidos indolilalifáticos libres correspondientes), que consiste en la facilidad de administrar directamente soluciones acuosas de las amidas mediante aplicación tópica.

En las patentes antes mencionadas, las amidas de los ácidos indolilalifáticos y, por consiguiente, la D(+)-glucosamida del ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético se obtienen asimismo por reacción del cloruro de ácido correspondiente con la amina libre.

Este método es complejo y difícil, a causa de la inestabilidad de la D(+)-glucosamina libre, y la necesidad

414509



- resultante de operar a una temperatura baja y de preparar, cada vez, la base a partir del clorhidrato (que es, por el contrario, perfectamente estable). Aparte de estas consideraciones, se observó asimismo que, cuando se opera de acuerdo con las sugerencias generales de las patentes antes mencionadas, se obtiene sorprendentemente un compuesto, que, por los resultados analíticos y los análisis espectrales, se ha identificado, actualmente, como la D(+)-glucosamida del ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, y que, sin embargo, no es en absoluto acuoso soluble. En otras palabras, como que la D(+)-glucosamida del ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, carece de la propiedad atribuida a ella por las patentes estadounidenses número 3.285.908 y 3.336.194, constituye una sustancia nueva y, hasta ahora, no caracterizada. Por otra parte, son muy interesantes las características toxicológicas, farmacológicas y químicas del citado compuesto, que se definirá en lo sucesivo, por motivos de brevedad, mediante la marca SIR 227. Las citadas características se pueden resumir como sigue:
5.
10.
15.
20.

Estudios farmacológicos y clínicos.-

En la tabla 1 se describen los efectos farmacológicos de SIR 227 en comparación con la indometacina, así como también los efectos en toxicidad subaguda y subcrónica de ambos medicamentos.

25.

La DL_{50} en el ratón por ruta gástrica es > 3000 mg/kg para el SIR 227, mientras que para la indometacina es de 37 mg/kg. La DL_{50} de SIR 227 en la rata por ruta gástrica es > 3000 mg/kg mientras que para la indometacina

414509

- 8 M



- es de 46 mg/kg. La dosis media antiflogística de indometacina en la rata (5 mg/kg per os) ocasiona un 100% de grado de defunción, después de 12 días de tratamiento continuado, con lesiones gastrointestinales ulcerativas y hemorrágicas y lesiones hepáticas, que asimismo se observan en el ratón, en el conejillo de indias y en el conejo, mientras que dosis 4-8 veces más elevada de SIR 227 son toleradas perfectamente por las mismas especies asimismo para un tratamiento continuado de 30-60 días.
- 5.
10. Son igualmente considerables las diferencias observadas entre la toxicidad crónica de SIR 227 y de indometacina en la rata. La dosis de 30 mg/kg per os, de SIR 227, cuando se administra cada día en la rata durante tres meses, ocasiona una ligera reducción en el desarrollo corporal, no modifica el tipo hemocromo-citométrico ni reduce la eliminación hepática de BSP. No resulta cambio en la composición de la orina y sedimento. La diuresis de carga hídrica no se modifica después de 30 días de tratamiento continuado; sin embargo, tiende a descender durante los últimos períodos del tratamiento crónico (90 días). Tras completar el tratamiento, no se encontraron ni mortalidad ni cambios histomorfológicos perceptibles. Investigaciones comparativas realizadas con indometacina administrada diariamente en la dosis de 2,5 mg/kg per os por 30 días han puesto en evidencia en exámenes histomorfológicos, infiltraciones leucocíticas en el nivel hepático. Además se observa que, después de 30 días de tratamiento con tal dosis de indometacina, se inicia la mortalidad de los animales tratados. Con referencia al efecto antiinflamatorio, la actividad de los dos medica-
- 15.
- 20.
- 25.



414509

mentos en el ensayo de flogosis con formalina es asimismo para dosis equimoleculares, mientras que, para la flogosis por carragenina, es inferior para SIR 227, aunque sin embargo permaneciendo en aproximadamente el mismo orden de magnitud sobre una base molecular (1:2). En la flogosis productiva de algodón en la rata (granuloma de bolitas de algodón), el efecto de SIR 227 es prácticamente idéntico al de la indometacina (en dosis molecular). El margen de seguridad (DL_{50}/DE_{50}), es totalmente favorable para SIR 227.

5.

10.

Como es de observar en la tabla 1 incluida, la comparación entre SIR 227 y la indometacina se resuelve en una preferencia clara de la substancia obtenida de acuerdo con la invención. Sin embargo, aún cuando, en efecto, las actividades antiinflamatorias de los dos medicamentos no difieren substancialmente, la reducción muy notable en toxicidad realizada con SIR 227 no puede desestimarse.

15.

20.

De todos modos, las suposiciones farmacológicas arriba mencionadas se han probado en la experimentación clínica. En las experimentaciones clínicas realizadas tanto en comparación con "Placebo" y con indometacina, se ha probado que SIR 227 siendo eficaz asimismo desde un punto de vista clínico, se tolera extremadamente bien también y mayormente. Aunque se administre en dosis por dos o cuatro veces superiores que la indometacina, se ha probado extremadamente baja la presencia de efectos colaterales.

25.

Por la tabla 2, puede observarse claramente la excelente compatibilidad de SIR 227, en comparación con la presencia de efectos colaterales que se encontraron tras tratamiento con indometacina. La presencia así reducida de

414509-8



efectos colaterales debe ser particularmente apuntada así mismo a causa de que concuerda claramente con lo que se ha observado en la experimentación sobre animales.

TABLA I

SIR 227

5.

FARMACOLOGIA:

Tabla resumen

Parámetro	SIR 227	Indometacina
10. DL ₅₀ (rata)	> 3000 mg/kg per os	46 mg/kg per os
10. Flogosis productiva (granuloma) 50% de inhibición en la rata normal	11.2 mg/kg per os (= μ M 21)	8 mg/kg per os (= μ M 22)
15. flogosis productiva (granuloma) 50% de inhibición en la rata <u>supra-renal</u> ectomizada	14 mg/kg per os (= μ M 26)	10 mg/kg per os (= μ M 27.9)
15. edema de carragenina, 50% de inhibición (rata)	25 mg/kg per os (= μ M 46.6)	7.5 mg/kg per os (= μ M 21)
20. MARGEN DE SEGURIDAD		
DL ₅₀ /DE ₅₀	de 1: 35.7 a 1: 267.8	de 1: 4.8 a 1: 6.4
25. casos de letalidad resultantes de daños gastrointestinales ulcerantes y hemorrágicos por tratamiento subagudo	ratón: 0% (20 mg/kg per os x 30 días) rata : 0% (30 mg/kg per os x 60 días) conejiillo de indias: 0% (20 mg/kg per os x 30 días) conejo: 0% (10 mg/kg per os x 30 días)	100% (5 mg/kg per os x 11 días) 100% (15 mg/kg per os x 12 días) 100% (10 mg/kg per os x 6 días) 100% (10 mg/kg per os x 12 días) 100% (10 mg/kg per os x 14 días)

414509



TABLA 1 (cont.)

Parámetro	SIR 227	Indometacina
5. hepatotoxicidad	daño no histológico (rata 30 mg/kg per os x 90 días)	infiltraciones leucocíticas (rata 2,5 mg/kg per os x 30 días) - iniciando mortalidad después de 31 días.

10. Comparación de SIR 227, indometacina, fenilbutazona y ácido acetilsalicílico sobre toxicidad aguda y algunos ensayos para la evaluación de medicamentos antiinflamatorios

Parámetro	SIR 227	Indometacina	Fenilbutazona	Aspirina
15. DL ₅₀ -mg/kg p.os	ratón 3;760 rata >3,000	ratón 36.9 rata 46,0	ratón 1,050 rata 700	ratón 1,095 rata 1,410
15. edema de carra-genina DE ₅₀ -mg/kg p.os	25.0	7.5	177	186
20. granuloma de algodón en la rata DE ₅₀ -mg/kg p.os	11.09	8.64	270	-
20. granuloma de algodón en la rata suprarrenal-ectomizada dosis mg/kg. p.os y % de inhibición basada sobre los controles	14 - 42.6 %	10 - 37.2 %	200 - 24.7 %	-
25.				



TABLA 2 **414509**

CLINICA:

5. Tabla resumen de los promedios y de la significación de los efectos colaterales considerados después del tratamiento con indocid y SIR 227 (15 días)

efectos colaterales	indocid	SIR 227	F de Fischer	significación
10. pirosis gástrica	*1.667 (6/15) (40%)	*1.067 (1/15) (6.6%)	5.30	<0.05
náusea	*1.733 (6/15) (40%)	*1.00 (0/15) (0%)	6.66	<0.05
cefalea	*1.80 (7.15) (46.6%)	*1.00 (0/15) (0%)	9.34	<0.01
vómito	*1.067 (1/15) (6.6%)	*1.00 (0/15) (0%)	-	-
15. sangre oculta en las heces	*1.267 (3/15) (20%)	*1.067 (1/15) (6.6%)	1.43	N.S.

NOTA.- Los números entre paréntesis indican la relación de suceso de los efectos colaterales sobre la cantidad de casos tratados.

20. * Las cifras marcadas con un asterisco forman parte del proceso estadístico de los efectos colaterales evaluados sobre una base considerada.

25. Como ya se mencionó, la preparación de las D(+)-glucosamida del ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indoil-3-acético, de acuerdo con el método descrito para las otras amidas por la técnica previa, se pone difícil y no muy práctico, debido a la necesidad de preparar previamente D(+)-glucosamina a partir del clorhidrato. Según la invención, el compuesto interesado se obtiene, por el contrario,



414509

414509

- fácilmente partiéndolo del cloruro de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético (que se aísla e identifica), y a partir del clorhidrato de D(+)-glucosamina, al adicionar una base fuerte (tal como dióxido de sodio), en proporciones molares para asegurar condiciones de pH tamponados para promedio de reacción. Así se opera en una relación molar de cloruro acílico; clorhidrato de D(+)-glucosamina: hidróxido sódico de aproximadamente 1:4,2, apropiadamente en un ambiente heterogéneo, ya que a una solución del cloruro acílico en un disolvente orgánico (tal como dioxano, éter dietílico o cloroformo) se adiciona una solución acuosa del clorhidrato de D(+)-glucosamina e inmediatamente después una solución acuosa de hidróxido (método A).

- Los siguientes ejemplos son ilustrativos pero no limitativos en carácter para los procedimientos antes descritos.

EJEMPLO 1

- a) Se adicionan 200 cc de cloroformo y 75 cc (125 g) de cloruro de tionilo a 30 g de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, situado en un matraz completamente seco y equipado con un condensador de reflujo y un embudo de carga.

- La mezcla se refluye por 15 minutos. Al evaporar el disolvente y cristalizar el residuo en benceno se obtienen 23 g de cloruro 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, punto de fusión = 126-129°C.

Análisis, % en peso

Calculado	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>
	60,6	3,9	3,73
Hallado	60,77	4,07	3,60



El compuesto resulta muy soluble en cloroformo, escasamente soluble en éter de etilo, y cristaliza en benceno y tetracloruro de carbono.

- b) Se adicionan una solución enfriada de 43 g de clorhidrato de D(+)-glucosamina en 140 cc de agua y 35 cc de solución de NaOH al 12% a 20 g de cloruro 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, disuelto en un disolvente orgánico (los preferidos son cloroformo, éter etílico y dioxano). La totalidad se deja durante 1 hora a temperatura ambiente bajo agitación. Tras dilución con agua se separa un producto que se lava, aísla y seca en vacío. El producto seco así obtenido se muele finamente y se trata con una cantidad de metanol de 10 veces su peso y de nuevo se separa por filtración y se seca en vacío para dar 20 g de glucosamida de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético monohidrato, con las siguientes propiedades :

- polvo cristalino ligeramente amarillo, con punto de descomposición a aproximadamente 218° C;
- solubilidad: insoluble en disolventes orgánicos comunes, soluble en N,N-dimetilformamida; insoluble en agua;
- Espectro ultravioleta: absorción máxima a 318 nm (en metanol).

25. Análisis % en peso

Calculado	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>
	55,91	5,44	5,22
Hallado	56,07	5,60	5,20



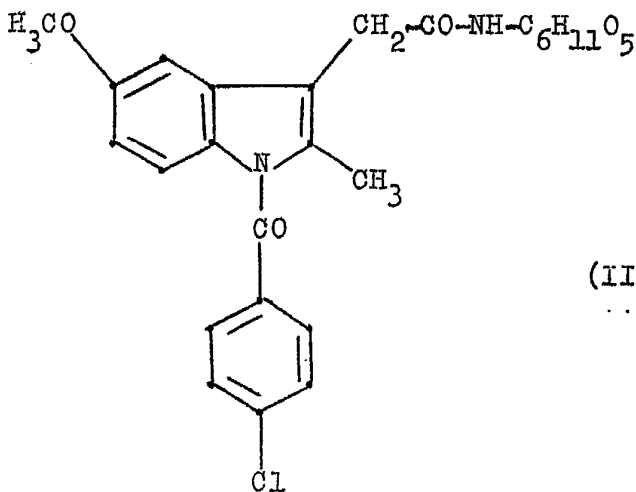
REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente italiana nº 24118/72 del 9 de Mayo de 1972.

5.

1.-Un procedimiento para preparar D(+)-glucosamida de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, de la fórmula (II)

10.



15.

en la que

$-NH-C_6H_{11}O_5$ representa el radical de D(+)-glucosamina,

20.

caracterizado en que se adicionan en frío una solución acuosa de clorhidrato de D(+)-glucosamina y una solución acuosa de una base fuerte a una solución de cloruro de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético, y porque la totalidad se mantiene bajo agitación a temperatura ambiente hasta completar la reacción.

25.

2.-Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado en que la relación molar de cloruro acílico: D(+)-glucosamina: base fuerte es 1:4:2 aproximadamente.

414509

414509



3.- Un procedimiento, según la reivindicación

caracterizado en que se utiliza o cloroformo o éter etílico o dioxano en calidad de disolvente orgánico para el cloruro acílico.

5.

4.- Un procedimiento, según las reivindicaciones

1-3, caracterizado en que se utiliza hidróxido de sodio en calidad de base fuerte.

5.- Un procedimiento para preparar D(+)-glucosa-

mida de ácido 1-(p-clorobenzoil)-2-metil-5-metoxi-indolil-3-acético.

10.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva, que consta de 12 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 8 Mayo de 1973
JAIMÉ SERNA

p.a. P. P.

Firmado: JOSE L. MORA

15.